

关于区分朱砂叶螨和二斑叶螨两个近似种的研究

匡海源 程立生*

(南京农业大学植保系, 南京)

摘要 朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) 和二斑叶螨 *T. urticae* Koch 存在完全的生殖隔离, 属于两个不同的种; 二斑叶螨的北京地理种群和英国地理种群经过杂交能产生正常的 F_1 代, 不表现生殖隔离, 应属同一种。这两个种的幼、若螨体色均为黄绿色, 体背两侧具有褐斑, 但发育到成螨 (非越冬型) 时, 朱砂叶螨变为锈红或红褐色, 而二斑仍为黄绿色。朱砂叶螨的足 I 胫节刚毛数有变异, 分别为 10、12 或 13 根, 它们的变异概率分别为 70%、15% 和 15%; 二斑叶螨为 10 根, 个体间无变异。朱砂叶螨的阳茎端锤大, 钩部较宽, 端锤的近侧突起钝圆, 远侧突起尖锐, 端锤背缘隆起点靠近远侧突起; 二斑叶螨的阳茎端锤小, 钩部较窄, 端锤的近侧突起和远侧突起均尖锐, 端锤背缘隆起点近中部。朱砂叶螨和二斑叶螨雌成螨第二、三对背中毛之间的肤纹突起密度存在显著差异, 前者平均为 7.00 ± 0.39 个/10 微米, 后者平均为 5.80 ± 0.24 个/10 微米。我们用聚丙烯酰胺凝胶电泳方法测定了非越冬型群体的几种同工酶, 结果这两个种的苹果酸酶同工酶及 MDH₁、MDH₂ 同工酶 (苹果酸脱氢酶) 的基因型不同。还测定了这两个种的非越冬型雌成螨的过冷却点, 结果二斑叶螨远比朱砂叶螨低。

关键词 朱砂叶螨 二斑叶螨 杂交 同工酶。

朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) 和二斑叶螨 *T. urticae* Koch 于 1971 年正式废除原复合种名——*Tetranychus telarius* L. 之后, 单独成立为二个近似种, 它们属于分布广泛的多食性重要害螨。但是如何正确地地区别这两个近似种, 在国内外存在争议。如过去对这两个近似种的幼、若螨体色变化, 尚缺乏详细描述和报道, 而对成螨的体色, 多数学者的记载是二斑叶螨的非滞育个体体色为黄绿色 (王慧美, 1981; Brandenburg, R. L. et al, 1981), 而马恩沛等 (1984) 则认为是锈红色或黄绿色; 在肤纹突起方面, 许多作者把雌成螨第二、三对背中毛之间的肤纹突起形状及其密度作为区分这两个近似种的重要形态特征 (江原昭三等 1975; Boudreaux, H. B., 1956; Brandenburg, R. L. et al, 1981) 但 Moller 等人于 1984 年指出, 这种肤纹突起的密度会随着温、湿度的变化而变化, 为不稳定的形态特征, 不能作为区分种的特征; 两个种的雄性生殖器形状在一般情况下是可以区别的, 但朱砂叶螨的阳茎存在着多种变异, 其中有些类型与二斑叶螨的阳茎十分相似, 又给鉴别这两个种带来了困难 (王慧美, 1981; 江原昭三等, 1975; Boudreaux, H. B., 1956)。

由于这两个近似种本身具有许多共同的特征, 以及长期以来存在上述争议。因此我国除西北内陆棉区之外, 其它各棉区的优势害螨种类究竟是朱砂叶螨还是二斑叶螨尚存在着争论 (王慧美, 1981; 江西大学编著, 1984)。为此, 本文从杂交、体色变化、体形大小、

本文于 1986 年 10 月收到。

* 现在华南热带作物学院工作。

外部形态特征、超微结构、生理生化和生态等方面对这两个种进行了较为全面的研究比较。

材 料 和 方 法

一、供试材料及饲养

朱砂叶螨采自江苏省启东县棉花,雌螨体红色。

二斑叶螨北京地理种采自北京一串红;英国地理种采自英国 Bangor 北威尔士大学,大豆。它们的雌螨均为绿色

供试螨的食料为菜豆。

二、实验方法

1. 杂交采用正交、反交和回交等方法。

2. 雌成螨后半体第二对和第三对背中毛之间肤纹突的电镜扫描参考 Brandenburg, R. L. et al (1981) 的方法。

3. 过冷却点测定: 每一虫种分别取 15 头雌成螨在相同条件下测定其过冷却点。过冷却点用温差热电偶测定仪测定,温差电流由检流计测得。

4. 同工酶的测定采用聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳法。

结 果 与 讨 论

一、杂交反应

叶螨属可营产雄孤雌生殖。未受精的卵只发育为雄虫,而受精卵可发育为雌、雄个体,因此杂交后能否产生雌虫即为衡量生殖隔离与否的关键。朱砂叶螨和二斑叶螨杂交反应结果见表 1 与表 2。二斑叶螨北京种群与英国种群杂交能产生完全正常的 F_1 代,证明为同一种。二斑叶螨两个种群与朱砂叶螨杂交 F_1 代全部为雄虫,表现完全生殖隔离。

表 1 两种叶螨杂交 F_1 代观察

配 对	杂交对数	产生雌性 F_1 代对数	F_1 雌(头)		F_1 雄(头)		F_1 代性比 (雌/雄)
			总 数	平均	总数	平均	
北京二斑雌×英国二斑雄	15	15	163	10.9	86	5.7	1.9
北京二斑雌×朱砂叶螨雄	14	0	0		230	16.4	
北京二斑雌×北京二斑雄	3	3	57	19.0	16	5.3	3.6
英国二斑雌×北京二斑雄	10	10	217	21.7	83	8.3	2.6
英国二斑雌×朱砂叶螨雄	15	0	0		242	16.1	
英国二斑雌×英国二斑雄	2	2	28	14.0	21	10.5	1.3
朱砂叶螨雌×北京二斑雄	14	0	0		448	32.0	
朱砂叶螨雌×英国二斑雄	11	0	0		235	16.8	
朱砂叶螨雌×朱砂叶螨雄	2	2	36	18.0	10	5.0	3.6

注: 北京二斑指二斑叶螨北京种群; 英国二斑指二斑叶螨英国种群。

二、外部形态

1. 体色

表2 两种叶螨杂交 F_2 代观察

F_1 代雌成螨来源	雌螨数量 (头)	产卵雌螨数 (头)	产卵量 (粒)	卵孵化量 (粒)	F_2 代雌螨 (头)	F_2 代雄螨 (头)	F_2 代性比 (雌/雄)
北京二斑雌×英国二斑雄	10	10	99	99	75	24	3.1
英国二斑雌×北京二斑雄	10	10	104	104	76	28	2.7

雌成螨 朱砂叶螨一经羽化就呈现比较鲜艳的红色,以后转变为锈红色或红褐色,体躯两侧背面各有两个褐斑,前面一对大的褐斑可以向末体延伸而与后面一对小的褐斑相连接;二斑叶螨体色为黄绿色,体躯背面两侧各有褐斑一个,褐斑外侧有明显或模糊的三裂,少数个体在这两个大褐斑后面还有两个小褐斑,但这两个小褐斑色淡而不太明显。

雄成螨 朱砂叶螨为红色或橙红色;二斑叶螨为淡黄色到黄绿色。

2. 外部形态特征比较

雌成螨足 I 胫节刚毛数比较——二斑叶螨足 I 胫节刚毛为 10 根;朱砂叶螨足 I 胫节刚毛数有变异,分别为 10、12 或 13 根,这种变异据我们测定计算 ($n = 80$),属于 10 根的个体占 70% ($\pi_{0.95} = 70 \pm 10.2\%$),而属 12 根或 13 根的个体各占 15% ($\pi_{0.95} = 15 \pm 8.0\%$)。

阳茎比较——二斑叶螨阳茎端锤小,端锤近侧突起和远侧突起均较尖利,端锤背缘近中部凸出形成一钝角,测知阳茎端锤的宽度为 3 微米,钩部宽 1 微米(图 1);朱砂叶螨阳茎端锤大,近侧突起钝圆,远侧突起尖利,端锤背面靠近远侧突起约 $1/3$ 处凸出形成一钝角,阳茎端锤宽度为 4 微米,钩部宽为 1.4 微米(图 2)。

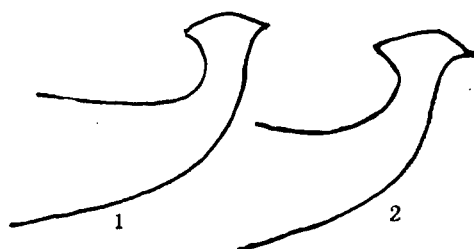


图 1—2

1. 二斑叶螨(北京)阳茎侧面观; 2. 朱砂叶螨(江苏)阳茎侧面观。

3. 超微形态特征——肤纹突密度和形状的比较

二斑叶螨的纹突形状基本上为半圆形,底部宽而顶部钝(图 3);朱砂叶螨的纹突顶部明显尖而底部窄(图 4)。这与 Boudreaux (1956) 及江原昭三(1979)的报道相符。从纹突密度来看,朱砂叶螨平均每 10 微米内有 7.00 ± 0.39 个纹突;二斑叶螨北京种群的纹突密度与英国种群的纹突密度分别为每 10 微米内平均有 5.80 ± 0.24 个和 5.34 ± 0.39 个。经方差分析与多重比较,二斑叶螨两个地理种群的纹突密度无显著差异;而朱砂叶螨和二斑叶螨两个种群的纹突密度均存在显著差异(上述数据为 4 月下旬的扫描结果)。另外,我们还对二斑叶螨北京种群在盛夏季节(8 月上旬)进行了纹突扫描,结果其纹突密度为每 10 微米内 5.72 ± 0.41 个,与该种群在 4 月下旬的纹突密度扫描结果很接近,经多重比较,两者无显著差异(表 3),纹突形状亦无变化。4 月下旬与 8 月上旬饲养室内温度分别为 $20-23^{\circ}\text{C}$ 和 $27-30^{\circ}\text{C}$ 。但朱砂叶螨越冬型雌成螨体背纹突全部消失,肤纹呈平滑条状,不形成小突起(图 5),这可能是由于外界环境的改变而导致朱砂叶螨所产生的适应性

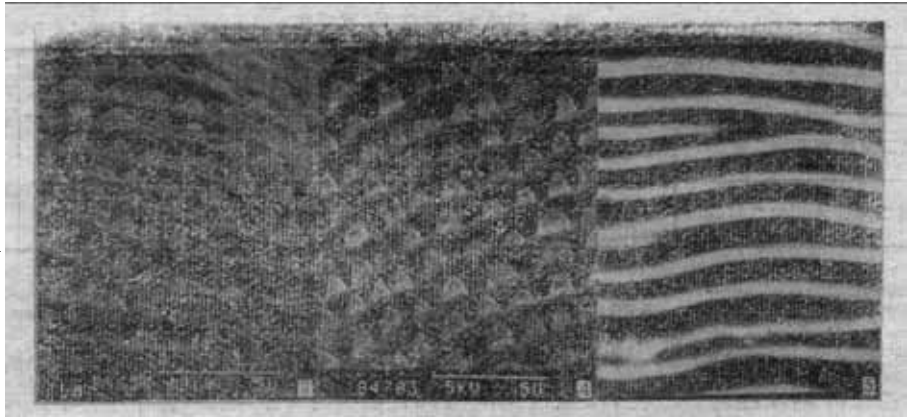


图 3—5

3.二斑叶螨(北京); 4.朱砂叶螨(江苏); 5.朱砂叶螨(江苏)。

注: 1.图 3、4 为非越冬型雌成螨的第 2—3 对背中毛之间的肤纹突起(扫描电镜 7100 倍)。
2.图 5 为越冬型雌成螨肤纹突起已消失(扫描电镜 5400 倍)。

表 3 两种叶螨纹突密度测定及比较 (SSR 测验)

种 类	来 源	扫描数量 (头)	纹突密度平均值 ($\bar{x} \pm tS\bar{x}$ 个/ 10 微米)	差异显著性	
二斑叶螨	英国	15	5.34 ± 0.39	a	A
	北京	15	5.89 ± 0.24	a	A
	北京*	15	5.72 ± 0.41	a	A
朱砂叶螨	江苏	15	7.00 ± 0.39	b	B

* 扫描时间为 8 月上旬,其余各样本的扫描时间均为 4 月下旬。

变化,因为纹突消失可以减少叶螨体内水份的蒸腾量,使体内热能散失减到最低限度。因此纹突密度和形状的比较对于非越冬型朱砂叶螨和二斑叶螨的区分有一定参考价值。

三、过冷却点的比较

由表 4 可知,二斑叶螨过冷却点平均值低于朱砂叶螨过冷却点平均值,差异显著,两个虫种的过冷却点平均值相差摄氏 7 度。在相同的条件下,过冷却点的高低是反映种的抗寒性强弱的一个标志。因此二斑叶螨的抗寒性比朱砂叶螨强。朱砂叶螨和二斑叶螨在地理分布上虽有重叠,但朱砂叶螨主要分布在热带及暖温带等低纬度地区,而二斑叶螨主要分布在温带或寒带等纬度较高的地区。我们的这一实验结果与两个种在地理上的分布状况一致。

四、同工酶比较

表 4 两种叶螨非越冬雌成螨过冷却点测定及比较

种 类	来 源	测定数量(头)	过冷却点平均值 ($\bar{x} \pm tS\bar{x}^{\circ}\text{C}$)	最高($^{\circ}\text{C}$)	最低($^{\circ}\text{C}$)	t 检验
二斑叶螨	北京	15	-26.3 ± 0.3	-25.6	-27.1	$P < 0.01$
朱砂叶螨	江苏	15	-19.3 ± 0.7	-17.5	-21.6	

1. 苹果酸酶 (ME) 同工酶

二斑叶螨显示三条谱带; 朱砂叶螨仅显示一条谱带, 色浓而致密 (图 6)。两个种各条带的形状、 R_f 值、扫描峰面积及所占百分比均不同 (表 5)。苹果酸酶同工酶是由同一基因位点的复等位基因控制的同工酶 (Ayala, F. J. et al, 1972) 二斑叶螨具有三种同工酶表现型, 说明其苹果酸酶同工酶是由两等位基因决定的二聚体。朱砂叶螨只有一条与二斑叶螨不同的酶带, 说明其同工酶是由不同于二斑叶螨的基因型所编码的单体或同聚体。这种基因型不同所产生的两个种之间的同工酶差异可以作为朱砂叶螨和二斑叶螨的鉴别特征。

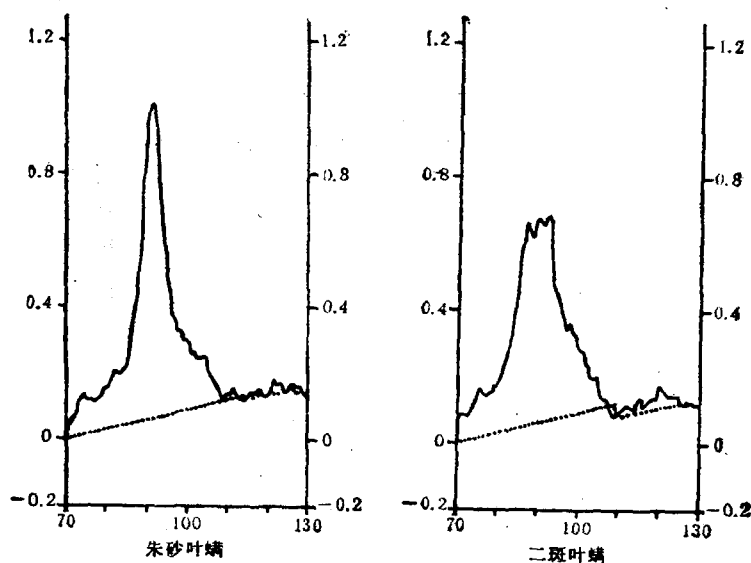


图 6 苹果酸酶同工酶酶谱扫描

表 5 两种叶螨 ME 同工酶酶谱扫描结果

虫 种	R_f	扫描峰面积	百分比(%)
朱砂叶螨	0.32	35494	100
二斑叶螨	0.34	15748	35.8
	0.30	7515	20.7
	0.26	12972	43.4

2. 苹果酸脱氢酶 (MDH) 同工酶

参考 Ward, P. S. (1982) 的 MDH 酶谱划分法, 我们将 MDH 同工酶谱带划分成三个区, 即以正极到负极依次为 MDH_1 , MDH_2 和 MDH_3 。这两个种在 MDH 的三个区域都有明显的谱带, 但各自在 R_f 值、百分比等方面存在差异 (图 7, 表 6)。

MDH_1 : 两个种各显一条带, R_f 值稍有差异。这说明这两个种的 MDH_1 同工酶是单体或相同蛋白质亚基组成的同聚体。两个种的酶带 R_f 值不同说明这种同工酶的基因可能不同。

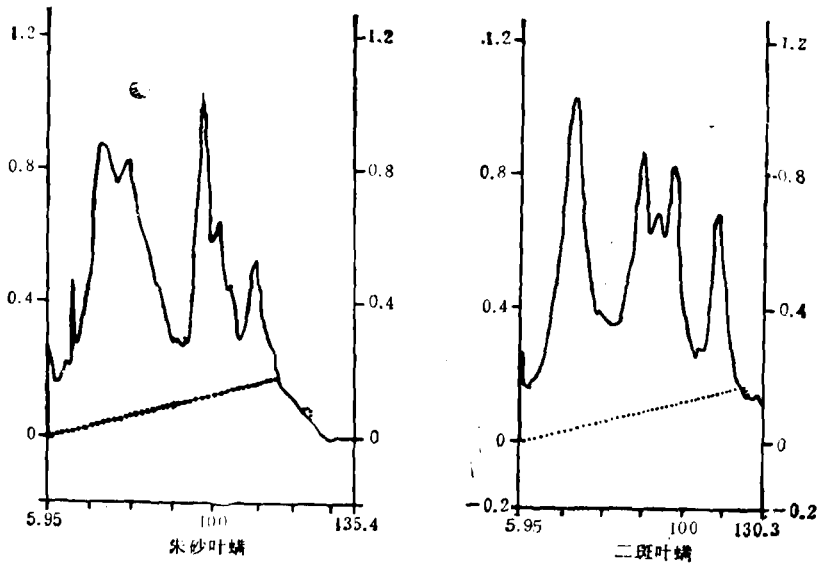


图7 苹果酸脱氢酶同工酶谱扫描

表6 两种叶螨 MDH 同工酶谱扫描结果

蠕 种	酶带区 数值	MDH ₁		MDH ₂				MDH ₃	
		R_f	扫描峰面积	R_f	扫描峰面积	R_f	扫描峰面积	R_f	扫描峰面积
朱砂叶螨	R_f	0.6		0.53	0.5	0.46		0.25	0.19
	扫描峰面积	14744	4330	7809	18169			31839	24537
二斑叶螨	R_f								
	扫描峰面积		9928		13284	7948	22771		41522
	%	14.5	4.3	7.7	17.9			31.4	24.2
	%		10.4		13.9	8.3	23.9		43.5

MDH₂: 两个种各显三条带,其中一条带的 R_f 值相同,其余两带的 R_f 值相距甚远(图7,表6)。MDH₂ 均为二等位基因控制的二聚体同工酶(Ward, P. S. et al 1982)。由此可以推知,这两个种的 MDH₂ 基因型不同,但两种基因型中具有一个相同的基因。

MDH₃: 二斑叶螨只有一条带;朱砂叶螨有两条带,其中一条带的 R_f 值与二斑叶螨的那条带相同。这说明 MDH₃ 是由二等位基因控制的单体或多聚体同工酶。二斑叶螨的二等位基因相同,因而只能形成一种单体或多聚体;朱砂叶螨的二等位基因中有一个与二斑叶螨不同,因而能形成二种单体或多聚体。

Ward 等(1982)研究表明: 土耳其斯坦叶螨 [*Tetranychus turkestanii* (Ugarov et Nikolski)] 的 MDH₁ 和 MDH₃ 具有一条稳定的带。如上所述,朱砂叶螨的 MDH₁ 和 MDH₃ 与二斑叶螨是有显著差异的。因而从 MDH₁ 和 MDH₃ 这两个同工酶位点来看,朱砂叶螨和二斑叶螨的相似性小于土耳其斯坦叶螨和二斑叶螨之间的相似性。Ward 等(1982)还报道: 土耳其斯坦叶螨和二斑叶螨的 MDH₂ 酶带变化较多,但两个种在基因频率上有明显的差异,并且土耳其斯坦叶螨所具有的有些 MDH₂ 酶带是二斑叶螨所没有

的,属于特异性酶带。Ward 等认为这种差异不是种内差异所造成的,是种间所具有的真正差异 (Ward, P. S. *et al* 1982)。将朱砂叶螨和二斑叶螨在 MDH 同工酶上所表现的差异与 Ward 等(1982)的研究结果相比较,我们认为朱砂叶螨和二斑叶螨是两个完全独立的种。

结 语

朱砂叶螨和二斑叶螨杂交表现完全的生殖隔离,朱砂叶螨和二斑叶螨的苹果酸酶同工酶及 MDH₂、MDH₃ (苹果酸脱氢酶) 的基因型不同,这表明它们为两个完全独立的种。据我们研究,这两个种从体色及外生殖器侧面观形状上很容易区分。即朱砂叶螨非越冬型雌、雄成螨为红色;而二斑叶螨为黄绿色或淡黄绿色。朱砂叶螨雄成螨阳茎端锤大,近侧突起钝圆,远侧突起尖利,端锤背面靠近远侧突起约 1/3 处凸出而形成一钝角;二斑叶螨雄成螨阳茎端锤较小,端锤近侧突起和远侧突起均较尖利,端锤背缘近中部凸出而形成一钝角。

据我国棉叶螨的历史记载材料,以及近年来从事棉花害螨种类区系调查的结果分析,除西北内陆棉区的土耳其斯坦叶螨和敦煌叶螨为黄绿色之外,其它棉区尚未见有绿色叶螨的报道,因此这些棉区的害螨优势种可能属于原复合种里的红色种——朱砂叶螨。

参 考 文 献

- 王慧美 1981 中国经济昆虫志。螨目:叶螨总科。科学出版社。
 江西大学 1984 中国农业螨类。上海科学技术出版社。
 江原昭三、真提德纯 1975 农业大二学。全国农村教育协会。
 Ayala, F. J. and Powell, J. R. 1972 Allozymes as diagnostic characters of sibling species of *Drosophila*. *Pro. N. A. S.* 69: 1094—6.
 Boudreaux, H. B. 1956 Revision of the two-spotted spider mite (Acarina: Tetranychidae) complex, *Tetranychus telarius* (Linnaeus). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 49: 43—9.
 Brandenburg, R. L. and Kennedy, G. G. 1981 Differences in dorsal integumentary lobe densities between *Tetranychus urticae* Koch and *T. cinnabarinus* (Boisduval) (Acarina: Tetranychidae) from northeastern North Carolina. *Internat. J. Acarol.* 7: 231—4.
 Jeppson, L. R. *et al.* 1975 Mites injurious to economic plants. Univ. Calif. Press. 1—614.
 Mollet, J. A. *et al* 1984 Effect of temperature and humidity on dorsal stria lobe densities in *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae). *Internat. J. Acarol.* 10: 159—61.
 Ward, P. S. *et al* 1982 Electrophoretic detection of enzyme polymorphism and differentiation in three species of spider mites (*Tetranychus*) (Acari: Tetranychidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 75: 595—8.

STUDIES ON THE DIFFERENTIATION OF TWO SIBLING SPECIES,
TETRANYCHUS CINNABARINUS (BOISDUVAL) AND
T. URTICAE KOCH

KUANG HAI-YUAN CHENG LI-SHENG

(Department of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing)

Reproductive isolation between *Tetranychus cinnabarinus* and *T. urticae* was complete. Cross-matings between two *T. urticae* populations originating from China and North Wales had produced normal F₁ females by following procedures of reciprocal cross and sib-cross, showing no reproductive isolation existed between these two populations. The larval phases of *T. cinnabarinus* and *T. urticae* were yellowish-green, but the non-winter form female of *T. cinnabarinus* was reddish brown and that of *T. urticae* showed green or yellowish-green colour. Tibiae of the first pair of most *T. cinnabarinus* adult females had 10 setae, and a few specimens with 12 or 13 setae were also found, but only with 10 setae in *T. urticae*. The terminal knob and hook of aedeagus of *T. cinnabarinus* were larger and wider than those of *T. urticae*. The knob of aedeagus of *T. cinnabarinus* dorsally convex, with obtuse inner projection and apically acute outer projection, and dorsally projecting point of the knob was proximal to the outer projection; the knob of aedeagus of *T. urticae* also dorsally convex, with inner and outer projections all acute and dorsally projecting point in the middle of dorsal margin. There was significant differences between *T. cinnabarinus* and *T. urticae* in dorsal stria lobe densities of the specific area bounded by the 2nd and 3rd pair of dorsomedial hysterosomal setae, the results of our experiments showed that *T. urticae* averaged 5.80 ± 0.24 lobes/10 microns and *T. cinnabarinus* 7.00 ± 0.39 lobes/10 microns. Polyacrylamide gel electrophoresis was used to demonstrate isozymatic differentiation between these two sibling species, ME and MDH2, MDH3 enzymatic zymograms revealed both strains had different patterns. The under cooling point of the non-winter form adult female of *T. urticae* was much lower than that of *T. cinnabarinus*.

Key words *Tetranychus cinnabarinus*—*T. urticae*—hybridization—isozymes